

4/5/4

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI

(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

008574655

WPI Acc No: 1991-078688/199111

XRAM Acc No: C91-033661

Stable compsns. of human B cell differentiation factor - contg.
serum-derived proteins such as albumin or alpha 2-macroglobulin as
solubilising or stabilising agent

Patent Assignee: AJINOMOTO KK (AJIN)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 3027320	A	19910205	JP 89163088	A	19890626	199111 B

Priority Applications (No Type Date): JP 89163088 A 19890626

Abstract (Basic): JP 3027320 A

Stabilised pharmaceutical compsns. of human B cell differentiation (human BCDF) are suitable for admin. to animals and humans. Human BCDF in the compsns. contain an amino acid sequence contg. 200 residues, where Ala may be present. Human BCDF does not have sugar chains, and is made of procaryotes. Therapeutically effective amt. of human BCDF is dissolved or dispersed in insol. carrier medium contg. at least one solubilising or stabilising agent. The compsns. are in the form of liq. or a lypholisate. The solubilising or stabilising agent is one of the serum-derived proteins, such as albumin or alpha-macroglobulin.

USE/ADVANTAGE - The pharmaceutical compsns. having a therapeutically effective amt. of BCDF, which can differentiate matured B cells into antibody-producing cells, are useful as a stabilised pharmaceutical formulation suitable to administer to animals or humans.

In an example, recombinant DNA technique using E. coli produced natural human BCDF contg. the N-terminal Ala was employed. 50 micro-l of 20% human serum albumin liq. (contg. Na 3.3mg/ml, Cl 3.1mg/ml, Na caprylate 2.659mg/ml, acetyltryptophane Na 4.2925m/ml) was added to 200 micro-l of the human BCDF (200 micro-g/ml PBS soln., specific activity 2.5 U/ng). The total amt. was made to 4l by adding saline and aseptically filtered through 0.22 micron Millipore filter. The filtrate (200 micro-l, contg. 2 micro-g human BCDF and 500 micro-g human serum albumin) was placed in a 15 x 33mm sterilised glass vial and lypholised at 30m toll and 10 deg.C. for 20 hrs.. The lypholisate retained 100 15% activity after storage for 7 months at under 20 deg.C.. (7pp

Dwg.No.0/0)

Title Terms: STABILISED; COMPOSITION; HUMAN; CELL; DIFFERENTIAL; FACTOR;
CONTAIN; SERUM; DERIVATIVE; PROTEIN; ALBUMIN; ALPHA; MACRO; GLOBULIN;
SOLUBLE; STABILISED; AGENT

Derwent Class: B04; C03; D16

International Patent Class (Additional): A61K-037/02; A61K-047/42

File Segment: CPI

⑨ 日本国特許庁(JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A) 平3-27320

⑬ Int.Cl.⁵

A 61 K 37/02
47/42

識別記号

J

庁内整理番号

8615-4C
7624-4C

⑭ 公開 平成3年(1991)2月5日

審査請求 未請求 請求項の数 10 (全7頁)

⑮ 発明の名称 ヒトB細胞分化因子医薬組成物

⑯ 特 願 平1-163088

⑰ 出 願 平1(1989)6月26日

⑱ 発 明 者 岸 本 忠 三 大阪府富田林市中野3-5-1
⑱ 発 明 者 平 野 忠 三 大阪府茨木市美穂ヶ丘19
⑱ 発 明 者 秋 山 由 紀 雄 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央
研究所内
⑱ 発 明 者 岡 野 明 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央
研究所内
⑲ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号
⑲ 出 願 人 岸 本 忠 三 大阪府富田林市中野3-5-1

明 細 書

1. 発明の名称

ヒトB細胞分化因子医薬組成物

2. 特許請求の範囲

1. 動物又はヒトへの投与のために適切なヒトB細胞分化因子(以下ヒトBCDFとする)を安定化させた医薬組成物。

2. ヒトBCDFが下記のアミノ酸配列(I)を有するものである請求項(1)記載の組成物。

アミノ酸配列(I):

Pro Val Pro Pro Gly Glu Asp Ser Lys Asp Val
Ala Ala Pro His Arg Gln Pro Leu Thr Ser Ser
Glu Arg Ile Asp Lys Gln Ile Arg Thr Ile Leu
Asp Gly Ile Ser Ala Leu Arg Lys Glu Thr Cys
Asn Lys Ser Asn Met Cys Glu Ser Ser Lys Glu
Ala Leu Ala Glu Asn Asn Leu Asn Leu Pro Lys
Met Ala Glu Lys Asp Gly Cys Phe Gln Ser Gly
Phe Asn Glu Glu Thr Cys Leu Val Lys Ile Ile
Thr Gly Leu Leu Glu Phe Glu Val Tyr Leu Glu
Tyr Leu Gln Asn Arg Phe Glu Ser Ser Glu Glu

Gln Ala Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys Val
Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys Lys Ala Lys Asn
Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr Thr
Asn Ala Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gln Ala Gln
Asn Gln Trp Leu Gln Asp Met Thr Thr His Leu
Ile Leu Arg Ser Phe Lys Glu Phe Leu Gln Ser
Ser Leu Arg Ala Leu Arg Gln Met

3. ヒトBCDFが下記のアミノ酸配列(II)を有するものである請求項(1)記載の組成物。

アミノ酸配列(II):

Ala Pro Val Pro Pro Gly Glu Asp Ser Lys Asp
Val Ala Ala Pro His Arg Gln Pro Leu Thr Ser
Ser Glu Arg Ile Asp Lys Gln Ile Arg Tyr Ile
Leu Asp Gly Ile Ser Ala Leu Arg Lys Glu Thr
Cys Asn Lys Ser Asn Met Cys Glu Ser Ser Lys
Glu Ala Leu Ala Glu Asn Asn Leu Asn Leu Pro
Lys Met Ala Glu Lys Asp Gly Cys Phe Gln Ser
Gly Phe Asn Glu Gln Thr Cys Leu Val Lys Ile
Ile Thr Cys Leu Leu Glu Phe Glu Val Tyr Leu
Glu Tyr Leu Gln Asn Arg Phe Glu Ser Ser Glu

Glu Gln Ala Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys
Val Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys Lys Ala Lys
Asn Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr
Thr Asn Ala Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gln Ala
Gln Asn Gln Trp Leu Gln Asp Met Thr Thr His
Leu Ile Leu Arg Ser Phe Lys Glu Phe Leu Gln
Ser Ser Leu Arg Ala Leu Arg Gln Met

4. ヒトBCDFが糖鎖を有さないものである請求項(1)記載の組成物。

5. ヒトBCDFが原核生物で作られたものである請求項(1)記載の組成物。

6. 少なくとも一種の可溶化剤又は安定剤を含有する不溶性キャリアー培地中に溶解又は分散されたヒトBCDFの治療学的に有効な量を含んで成る請求項(1)記載の組成物。

7. 液体形又は凍結乾燥形のいずれかである請求項(1)又は(6)記載の組成物。

8. 可溶化剤又は安定剤として血清由来蛋白質を用いることを特徴とする請求項(6)記載の組成物。

9. 血清由来蛋白質としてアルブミンを用いる

ことを特徴とする請求項(8)項記載の組成物。

10. 血清由来蛋白質として α_2 -マクログロブリンを用いることを特徴とする請求項(8)項記載の組成物。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は医薬組成物に関する。より詳細に記すと、本発明はヒトBCDFの治療学的に有効な量を含んで成る医薬組成物に関する。

(従来の技術)

ヒト及びマウスにおいて成熟B細胞を抗体産生細胞へ分化させる因子をB細胞分化因子(BCDF)と総称する。

ヒトの体内においてこのような重要な作用を有するヒトBCDFについて、本発明者等は研究を重ね、そのDNA配列、及びアミノ酸配列を決定(特開昭63-42688, 63-56291)し、大腸菌によるヒトBCDFの生産に成功している(特開昭63-157996)。

またヒトBCDFが感染症及び癌の治療に有効な免疫療法剤となる事(特開平1-63524)、骨髓移植

療法の有効な支持剤となる事(特願昭63-310578)、
ワクチン効果増強剤となる事(特願昭63-183083)、
及び血小板減少症治療剤となる事(特開平1-6954)
も見出ししている。

これらの明細書中で製剤法についても一部言及している。

しかしながら、臨床的用途のためにより十分に純粋であり、かつより長期間にわたり安定なBCDFを含有する製剤は未だ知られていない。

なおヒトBCDFをBSF-2あるいはインターロイキン6(IL-6)と呼ぶことも提唱されているが、(Nature, 324, 73(1986), EMBO.J., 6, 1219(1987))ここでは従来よりのBCDFなる名称を用いる。またここで用いるヒトBCDFはインターフェロン活性を有さず、よってインターフェロン活性を持つIFN- β 様品(ヨーロッパ出願公開No. 0220574)とは異なる。

(発明が解決しようとする課題)

そこで本発明の目的は従来のものより有益な、動物又はヒトへの投与のために適切なヒトBCDFを

安定化させた医薬組成物の提供である。

(課題を解決するための手段)

本発明者等は上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、ヒト血清アルブミン及び安定剤を含有したリン酸緩衝生理食塩水に溶解させたBCDFが十分に純粋であり、長期間安定である事を見出し、本発明を完成した。すなわち、本発明はヒトBCDFの医薬組成物である。

本発明に係るヒトBCDFは例えば特開昭63-42688, 63-56291及び特願昭62-289007号公報に示されるような、下記のアミノ酸配列(I)又は(II)を有する。

アミノ酸配列(I):

Pro Val Pro Pro Gly Glu Asp Ser Lys Asp Val
Ala Ala Pro His Arg Gln Pro Leu Thr Ser Ser
Glu Arg Ile Asp Lys Gln Ile Arg Thr Ile Leu
Asp Gly Ile Ser Ala Leu Arg Lys Glu Thr Cys
Asn Lys Ser Asn Met Cys Glu Ser Ser Lys Glu
Ala Leu Ala Glu Asn Asn Leu Asn Leu Pro Lys
Met Ala Glu Lys Asp Gly Cys Phe Gln Ser Gly

Phe Asn Glu Glu Thr Cys Leu Val Lys Ile Ile
 Thr Gly Leu Leu Glu Phe Glu Val Tyr Leu Glu
 Tyr Leu Gln Asn Arg Phe Glu Ser Ser Glu Glu
 Gln Ala Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys Val
 Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys Lys Ala Lys Asn
 Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr Thr
 Asn Ala Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gln Ala Gln
 Asn Gln Trp Leu Gln Asp Met Thr Thr His Leu
 Ile Leu Arg Ser Phe Lys Glu Phe Leu Gln Ser
 Ser Leu Arg Ala Leu Arg Gln Met

又は

アミノ酸配列 (Ⅱ) :

Ala Pro Val Pro Pro Gly Glu Asp Ser Lys Asp
 Val Ala, Ala Pro His Arg Gln Pro Leu Thr Ser
 Ser Glu Arg Ile Asp Lys Gln Ile Arg Tyr Ile
 Leu Asp Gly Ile Ser Ala Leu Arg Lys Glu Thr
 Cys Asn Lys Ser Asn Met Cys Glu Ser Ser Lys
 Glu Ala Leu Ala Glu Asn Asn Leu Asn Leu Pro
 Lys Met Ala Glu Lys Asp Gly Cys Phe Gln Ser
 Gly Phe Asn Glu Gln Thr Cys Leu Val Lys Ile

ヒトBCDF活性を有する限り本発明のヒトBCDFとして用いることができる。好ましくは天然型ヒトBCDF又はヒトAla-BCDFを用いるのがよい。本発明に係るヒトBCDFの含量は当該医薬組成物中0.0001~100重量%、好ましくは0.1~1.0重量%である。

治療学的に有効なヒトBCDFの投与量は0.001 μ g/kg~1000 μ g/kg、好ましくは0.01 μ g/kg~500 μ g/kgより好ましくは0.1 μ g/kg~250 μ g/kgであるが、必ずしも上記に限定されるものではない。

更に本発明の医薬組成物にはヒトBCDF以外に、助剤としてレンチナンあるいはヒトBCDF以外のサイトカイン、例えば、IL-3、IL-1、IL-4、IL-5、G-CSF、GM-CSF、M-CSF、EPO及びMeg-CSFを1種類以上含有させてもよい。

これらの助剤の添加量は特に限定しないが、ヒトBCDFを100とした場合にそれぞれ0.0001~200000重量%添加すればよい。

くり返し述べるが、ヒトBCDFの治療学的有効量

Ile Thr Cys Leu Leu Glu Phe Glu Val Tyr Leu
 Glu Tyr Leu Gln Asn Arg Phe Glu Ser Ser Glu
 Glu Gln Ala Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys
 Val Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys Lys Ala Lys
 Asn Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr
 Thr Asn Ala Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gln Ala
 Gln Asn Gln Trp Leu Gln Asp Met Thr Thr His
 Leu Ile Leu Arg Ser Phe Lys Glu Phe Leu Gln
 Ser Ser Leu Arg Ala Leu Arg Gln Met

アミノ酸配列 (Ⅰ) は天然型ヒトBCDFであり、アミノ酸配列 (Ⅱ) は天然型ヒトBCDFのN末端にAlaが1つ付加されたポリペプチド (以下ヒトAla-BCDFと記す) である。しかし、本発明で用いるヒトBCDFは必ずしも上記アミノ酸配列 (Ⅰ) 又は (Ⅱ) で示される構造をとる必要はない。

即ち、天然型ヒトBCDFのN末端及び/又はC末端より1個もしくは複数個、メチオニン等のアミノ酸が付加された構造を有するもの、天然型ヒトBCDFの構造中の1個もしくは複数個のアミノ酸が他のアミノ酸に置換された構造を有するもの、

及びこれら助剤の添加量は決して上述の値に限定されるものでなく、症状、患者の年齢等により適宜決定すればよい。

さて、本発明に用いるヒトBCDFはヒトT細胞、B細胞、線維芽細胞等より既知の方法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 5490 (1985) により生産、精製したもので大腸菌、酵母、サル細胞 (COS細胞)、ハムスター、細菌など適当な宿主にヒトBCDFをコードする遺伝子を適当なベクターを用いて形質転換された株を培養することにより生産、更には精製したヒトBCDFを用いてもよい。

またヒトの血液・尿等より精製したものでよい。

精製法としては高速液体クロマトグラフィー、ゲル濾過、等電点電気泳動等を用いることができる。また特願昭62-263631及び特願昭63-53828に示すような方法で抗ヒトBCDF抗体を用いる事もできる。

なお、これらの製造法の詳細については特開昭61-115024、特開昭63-42688、特開昭63-56291号

公報及び特開昭63-157996を参考にされたい。

尚、念の為に言及するが大腸菌等の原核生物から作製されたものは糖鎖を有しないタイプである。

さて、製造されたヒトBCDFが前記のアミノ酸配列を有する事はアミノ酸分析並びにアミノ酸シーケンサーを用いた解析で確認された。すなわち、ヒトBCDFそのもの及びヒトBCDFをアセチル化したものを用い、ヒトBCDFまたはアセチル化ヒトBCDFをアクロモバクタープロウアーゼI、トリブシン等で切断した後、高速液体クロマトグラフィー法等で分離したペプチドフラグメント及びこれを過ギ酸酸化したものを用いて全アミノ酸配列を同定できた。

本発明の特徴はヒトBCDF活性を有する物質を動物又はヒトへの投与の為に安定化された医薬組成物であり、以下にその技術を説明する。

本発明の医薬組成物は少なくとも一種以上の可溶化剤又は安定剤等の不活性キャリアー培地中にヒトBCDFを単独又はIL-3等の助剤と組み合わせて溶解又は分散させたものである。

ビタン脂肪酸エステル（商標名Tween 20, Tween 80, Dvrtax 80等）等〕、陰イオン性界面活性剤（ラウリル硫酸ナトリウム等）天然系の界面活性剤（レシチン等）、糖類（マンニトール、ヒアルロン酸、デキストラン等）、高分子（ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン等）、アミノ酸（トリプトファン、ヒスチジン、システイン等）、含硫還元剤（チオグリコール酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム等）、酸化防止剤（ α -トコフェロール、ジブチルヒドロキシトルエン、 γ -アスコルビン酸ナトリウム等）安定剤（ヘマセル、アミノ酢酸等）、賦形剤（乳糖、マンニトール等）の一種以上を加えても良く、前記の血清由来蛋白質及び安定剤にさらにこれらを加えても良い。

前記可溶化剤あるいは安定剤の添加量はヒトBCDFを100とした場合にそれぞれ0.0001～1000000重量％が好ましいが、特にこの範囲に限定されるものではない。

本発明の医薬組成物は液体のままでも良く、ま

本発明の医薬組成物には可溶化剤または安定剤としてヒト血清由来蛋白質を用いると良い。例えば血清由来蛋白質としてはアルブミンが良いが、 α_2 マクログロブリンでも良く、またその他の血清由来蛋白質でも良い。またこれらを複数加える事も良い。これらの低下は器壁等への吸着を防止する、あるいは蛋白分解酵素等によりヒトBCDF分解を阻害する事等の効果を示す。

さらに安定剤として塩化ナトリウムの他にリン酸ナトリウム、リン酸カリウム、カプリル酸ナトリウム、アセチルトリブトファンナトリウム等の無機塩を添加してもかまわない。これらの添加は本医薬組成物の等張性を保持する、あるいはpHを安定させる事等の効果を示す。

さらにこれら以外の可溶化剤あるいは安定剤としては、例えば非イオン界面活性剤〔（オクチルフェノキシポリエトキシエタノール化合物（商標名 Triton ~~305~~, Triton ~~405~~等）、ポリエチレングリコールモノステアレート化合物（商標名 Mapeg 4000(MS)、等）、ポリオキシエチレンソル

た真空凍結乾燥等の方法で凍結乾燥形にしたものでも良い。保存温度は37℃以下が望ましく、より望ましくは4℃または-20℃であるが、それ以上もしくはそれ以下でもかまわない。上記温度にて本医薬組成物中のヒトBCDFは少なくとも6ヵ月以上生物活性を有し、安定である。

本医薬組成物は、注射用蒸留水、注射用生理食塩水等に溶解して投与すれば良い。液体形においてはそのまま投与しても良い。

投与方法は静脈内注射を用いても良いし、筋肉内注射、皮下注射で用いても良い。また点滴静注等の徐放的連続投与法を用いても良い。

本医薬組成物が含有するエンドトキシン量は0.03～0.13エンドトキシン単位(EU)/mgヒトBCDF以下である。最終投与製品は日本薬局注射水のエンドトキシン適合値0.25EU/ml及びウサギ発熱限界量0.5EU/mlを下回るものである。エンドトキシン量は市販測定キット、例えばバイロディック®（フナコシ薬品製）またはトキシカラシステム®（生化学工業製）を用いて測定する。

すすれば良い。

なお、BCDF活性は例えば特開昭63-42688に示した方法により測定可能である。以下本発明を実施例に従って説明する。

(実施例1、ヒトBCDF医薬組成物の作製)

組み換えDNA技術を用いて大腸菌で生産した後、単離したヒトBCDFを本実施例では用いた。本実施例で用いたヒトBCDFは前述のアミノ酸配列(Ⅱ)の天然型のヒトBCDFのN末端にAlaが1個付加された構造を有する。尚、大腸菌の生産については特開昭63-157996号公報を参照されたい。

さて、このヒトBCDF^塩品(200 μ g/ μ l、PBS溶液、比活性2.5 U/ng)200 μ lに20%ヒト血清アルブミン液(ナトリウム3.3 mg/ μ l、塩素3.1 mg/ μ l、カプリル酸ナトリウム2.659 mg/ μ l、アセチルトリブトファンナトリウム4.2925 mg/ μ l含有)50 μ lを添加、生理食塩水にて全量4 μ lとし、ミリポア社0.22 μ mフィルターにて無菌ろ過した。本溶液200 μ l(ヒトBCDF2 μ g、ヒト血清アルブミン500 μ g含

有)を乾熱滅菌したガラスバイアル(日電理化硝子、15 \times 33 mm)に入れ、-80 $^{\circ}$ Cにて凍結後、30 μ l、10 $^{\circ}$ Cの条件で20時間真空凍結乾燥した。また一部は凍結乾燥せず液体のまま保存した。

製造直後に上記バイアルを注射用蒸留水にて溶解し、ヒトBCDF活性を昭63-42688の方法に従い測定したところ、活性は100 \pm 0%保持されていた。また-20 $^{\circ}$ C、4 $^{\circ}$ C、20 $^{\circ}$ C及び37 $^{\circ}$ Cで保存し、1カ月後及び7カ月後に同様の方法で活性を測定したところ、37 $^{\circ}$ C保存では56 \pm 4%(1カ月後)、40 \pm 5%(7カ月後)に活性は低下したが、20 $^{\circ}$ C以下では100 \pm 15%の活性を保持していた。また液体のまま-80 $^{\circ}$ C、-20 $^{\circ}$ C及び4 $^{\circ}$ Cで保存した標品も6カ月後でも作成時の活性を保持していた。

(効果)

本発明の、ヒトBCDFの治療学的に有効な量を含んで成る医薬組成物は動物又はヒトへの投与のために適切な安定した医薬組成物として有用である。

手続補正書

平成1年8月25日

特許庁長官 吉田文毅殿

適

1. 事件の表示

平成1年特許願第163088号

2. 発明の名称

ヒトB細胞分化因子医薬組成物

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都中央区京橋一丁目5番8号

電話番号 東京(03)297-8653 番(代表)

名称 (006)味の素株式会社

代表者 取締役社長 島 羽 重

4. 補正指令の日付 日 月 年

5. 補正により増加する発明の数 な し

6. 補正の対象 明細書の「発明の詳細な説明」の欄

7. 補正の内容

(1) 明細書9頁10行目「 μ gkg」とあるのを「 μ g/kg」とする。

(2) 明細書15頁9行目から10行目「天然型のヒトBCDFのN末端にAlaが1個付加された構造を有する。」の記載を削除する。

手続補正書

平成2年 7 月 2 日

特許庁長官 吉田文毅殿

適

1. 事件の表示 平成1年特許願第163088号

2. 発明の名称 ヒトB細胞分化因子医薬組成物

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都中央区京橋一丁目5番8号

名称 (006)味の素株式会社

代表者 取締役社長 島 羽 重

4. 補正指令の日付 日 月 年

5. 補正により増加する発明の数 な し

6. 補正の対象 明細書の特許請求の範囲及び発明の詳細な説明の欄

7. 補正の内容

(1) 特許請求の範囲を別紙のとおり補正する。

(2) 明細書第7頁12行目～第8頁9行目の

「アミノ酸配列(Ⅱ)」を以下のように訂正する。

特許庁
2. 7. 3

アミノ酸配列 (Ⅱ) :

Ala Pro Val Pro Pro Gly Glu Asp Ser Lys Asp
 Val Ala Ala Pro His Arg Gln Pro Leu Thr Ser
 Ser Glu Arg Ile Asp Lys Gln Ile Arg Tyr Ile
 Leu Asp Gly Ile Ser Ala Leu Arg Lys Glu Thr
 Cys Asn Lys Ser Asn Met Cys Glu Ser Ser Lys
 Glu Ala Leu Ala Glu Asn Asn Leu Asn Leu Pro
 Lys Met Ala Glu Lys Asp Gly Cys Phe Gln Ser
 Gly Phe Asn Glu Gln Thr Cys Leu Val Lys Ile
 Ile Thr Cys Leu Leu Glu Phe Glu Val Tyr Leu
 Glu Tyr Leu Gly Asn Arg Phe Glu Ser Ser Glu
 Glu Gln Ala Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys
 Val Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys Lys Ala Lys
 Asn Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr
 Thr Asn Ala Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gln Ala
 Gln Asn Gln Trp Leu Gln Asp Met Thr Thr His
 Leu Ile Leu Arg Ser Phe Lys Glu Phe Leu Gln
 Ser Ser Leu Arg Ala Leu Arg Gln Met

Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys Lys Ala Lys Asn
 Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr Thr
 Asn Ala Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gln Ala Gln
 Asn Gln Trp Leu Gln Asp Met Thr Thr His Leu
 Ile Leu Arg Ser Phe Lys Glu Phe Leu Gln Ser
 Ser Leu Arg Ala Leu Arg Gln Met

3. ヒトBCDFが下記のアミノ酸配列 (Ⅱ) を有するものである請求項(1)記載の組成物。

アミノ酸配列 (Ⅱ) :

Ala Pro Val Pro Pro Gly Glu Asp Ser Lys Asp
 Val Ala Ala Pro His Arg Gln Pro Leu Thr Ser
 Ser Glu Arg Ile Asp Lys Gln Ile Arg Tyr Ile
 Leu Asp Gly Ile Ser Ala Leu Arg Lys Glu Thr
 Cys Asn Lys Ser Asn Met Cys Glu Ser Ser Lys
 Glu Ala Leu Ala Glu Asn Asn Leu Asn Leu Pro
 Lys Met Ala Glu Lys Asp Gly Cys Phe Gln Ser
 Gly Phe Asn Glu Gln Thr Cys Leu Val Lys Ile
 Ile Thr Cys Leu Leu Glu Phe Glu Val Tyr Leu
 Glu Tyr Leu Gln Asn Arg Phe Glu Ser Ser Glu
 Glu Gln Ala Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys

別 紙

2. 特許請求の範囲

1. 動物又はヒトへの投与のために適切なヒトB細胞分化因子 (以下ヒトBCDFとする) を安定化させた医薬組成物。

2. ヒトBCDFが下記のアミノ酸配列 (1) を有するものである請求項(1)記載の組成物。

アミノ酸配列 (1) :

Pro Val Pro Pro Gly Glu Asp Ser Lys Asp Val
 Ala Ala Pro His Arg Gln Pro Leu Thr Ser Ser
 Glu Arg Ile Asp Lys Gln Ile Arg Tyr Ile Leu
 Asp Gly Ile Ser Ala Leu Arg Lys Glu Thr Cys
 Asn Lys Ser Asn Met Cys Glu Ser Ser Lys Glu
 Ala Leu Ala Glu Asn Asn Leu Asn Leu Pro Lys
 Met Ala Glu Lys Asp Gly Cys Phe Gln Ser Gly
 Phe Asn Glu Glu Thr Cys Leu Val Lys Ile Ile
 Thr Gly Leu Leu Glu Phe Glu Val Tyr Leu Glu
 Tyr Leu Gln Asn Arg Phe Glu Ser Ser Glu Glu
 Gln Ala Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys Val

Val Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys Lys Ala Lys
 Asn Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr
 Thr Asn Ala Ser Leu Leu Thr Lys Leu Gln Ala
 Gln Asn Gln Trp Leu Gln Asp Met Thr Thr His
 Leu Ile Leu Arg Ser Phe Lys Glu Phe Leu Gln
 Ser Ser Leu Arg Ala Leu Arg Gln Met

4. ヒトBCDFが糖鎖を有さないものである請求項(1)記載の組成物。

5. ヒトBCDFが原核生物で作られたものである請求項(1)記載の組成物。

6. 少なくとも一種の可溶化剤又は安定剤を含有する不溶性キャリアー培地中に溶解又は分散されたヒトBCDFの治療学的に有効な量を含んで成る請求項(1)記載の組成物。

7. 液体形又は凍結乾燥形のいずれかである請求項(1)又は(6)記載の組成物。

8. 可溶化剤又は安定剤として血清由来蛋白質を用いることを特徴とする請求項(6)記載の組成物。

9. 血清由来蛋白質としてアルブミンを用いることを特徴とする請求項(8)項記載の組成物。

10. 血清由来蛋白質として α_2 -マクログロブリンを用いることを特徴とする請求項④項記載の組成物。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.